生体高分子分離用カラム

TSKgel BioAssist PW SECタイプ

取扱説明書

東ソー株式会社
TOSOH

ご使用の前に

¡本製品を使用する前に，必ずこの取扱説明書をよく読んで理解してください．
¡この取扱説明書は，手近な所に大切に保管し，必要なときにいつでも取り出せるようにしてください．
¡製品本来の使用方法および取扱説明書で指定した使用方法を守ってください．
¡本書の安全に関する指示に対しては，指示内容を理解の上，必ず従ってください．
以上の指示を必ず厳守してください．
指示に従わないと，けがや事故の恐れがあります．

【取扱説明書について】

¡取扱説明書の内容は，製品の性能・機能の向上により将来予告なしに変更することがあります．
¡取扱説明書の全部または一部を無断で転載，複製することは禁止しています．
¡取扱説明書を紛失したときは，巻末の連絡先までお問い合わせください．
¡取扱説明書の内容に関しては万全を期していますが，万一不審な点や誤り，記載漏れに気づいたときは，お手数ですが巻末の連絡先までご連絡ください．

安全上のご注意

- ご使用の前に，この「安全上のご注意」をよくお読みのうえ，正しくお使いください．
- この項目は，いずれも安全に関する内容ですので，必ず守ってください．
- 「警告」「注意」の意味は次のようになっています．

⚠ 警告	取扱いを誤った場合，使用者が死亡または重傷を負う可能性が想定されるもの．
⚠ 注意	取扱いを誤った場合，使用者が傷害を負う可能性が想定されるものまたは物的損害の発生が想定されるもの．

ご使用時

⚠ 警告

●火気厳禁

- 引火性のある溶媒を使用する場合，火気の使用は厳禁です．火災，爆発の原因になります．

⚠ 注意

●換気に注意を

- 引火性，毒性のある溶媒を使用する場合，充分換気をしないと火災，爆発，中毒の原因になります．

●液漏れに注意を

- 溶媒等の液漏れは，感電，中毒，薬傷，火災，腐食などの原因になります．液漏れの場合は，適切な保護具を付けた上で，液を取り除いてください．

⚠ 注意

●保護具の着用を

- 有機溶媒や酸などの溶離液を取扱う場合は，保護メガネ，手袋などの保護具をご使用ください．薬傷を負う恐れがあります．

●取扱いに注意を

- 取扱いが不適切であると，カラムの性能を損なうことがあります．取扱いには十分注意してください．

●適切な使用方法を

- 本カラムは分離，精製等に用いるもので，それ以外の目的には使用しないでください．

●圧力に注意を

- 急激な圧力上昇は，カラムの性能を損なう原因になります．又，カラム材質により破裂，飛散等の可能性があります．規定以上の圧力にならぬように注意ください．適切な保護具を付けた上で，十分注意して作業をおこなってください．

●分離精製物の取扱いに注意を

- 得られた分離精製物または精製溶液を製品及び中間体として使用する場合は，十分にその安全性の確認をおこなってご使用ください．

●処分には適切な処理を

- 廃棄する場合は，産業廃棄物として適切な処理をおこなってください．

【その他の注意】

- 本書は大切に保存してください．また，ご利用者が代わる場合には次のご利用者にお渡しください．

取扱い上のご注意（充てん剤に関する注意）

応急措置	眼に入った場合	¡ 流水で15分以上洗眼する．その際は瞼を開き水が全面にゆきわたるようにおこなう． ¡ 医師の手当を受ける．
	皮膚に付着した場合	¡ 水等で洗い流す．
	吸入した場合	¡ 空気の新鮮な場所に移動しうがいをおこなう．
	飲み込んだ場合	¡ 口腔を水洗し，医師の手当を受ける．
取扱いおよび保管上の注意	火気等の注意	¡ 火気の使用を禁じ火花の発生を防止するための防爆工具の使用および接地等をおこなう．
	換気	¡ 換気設備などで換気する．
	取扱い時の保護具	¡ 取扱いの際は保護メガネおよび防じんマスクを着用する．
廃棄上の注意	処分方法	¡ 廃棄する場合は焼却設備等で少量ずつ焼却処分をおこなう．
	一般的な留意事項等	¡ 処分作業は可燃物の取扱いおよび保管上の注意事項に留意しておこなう．

□充てん剤：ビニル共重合物

□出荷溶媒：蒸留水（0℃付近で凍結の可能性がありますので保存温度に注意してください）

目　次

1．はじめに……1
2．ご使用の前に……1
3．カラムの種類と性質および用途……1
4．カラムの構成……2
5．装置へのセットと注意……2
6．カラムの保存方法……6
7．溶媒の選択……6
8．使用流速……7
9．使用温度……7
10．理論段数，非対称係数の測定……8
11．ガードカラム……9
12．トラブル発生時の処置法……9
13．品質規格および保証 ……11
14．おわりに ……11

2002年11月作成

1. はじめに

本TSKgel BioAssist PW SECタイプは，生体高分子分離用に開発された充てんカラムです．このカラムには親水性ビニルポリマー充てん剤がバイオイナートなPEEKカラムに充てんされています．したがって生体高分子などの回収率が高くまた変成作用も小さいカラムです．

この高性能カラムの性能を十分に発揮させ効果的にご使用いただくため，ご使用の前に取扱説明書を必ずお読みの上，正しくご使用いただきますようお願いいたします．

2. ご使用の前に

まず，梱包状態およびカラムの外観に異常がないかご確認ください．

図1　梱 包 外 観 図

つぎに，添付書が入っていますので，ご確認ください．

・取扱説明書……1部
・検査票（INSPECTION DATA）……1部

3. カラムの種類と性質および用途

TSKgel BioAssist PW SECタイプカラムを下記に示します．

カラム名称	TSKgel BioAssist G6PW
カラムサイズ	7.8㎜（内径）×30㎝（長さ）PEEK*1
基材	多孔質アクリレート
粒子径（μm）	17
出荷溶媒	H_2O

*1：PEEK…ポリエーテルエーテルケトン

4. カラムの構成

カラムの構成を図2に示します.

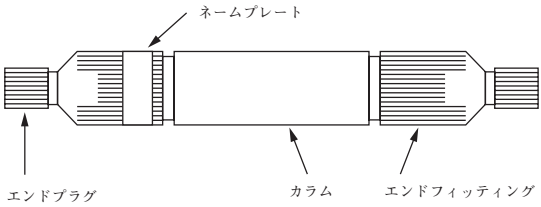

図2 カラム構成図

5. 装置へのセットと注意

5-1 カラム部品の接続方式

BioAssist PW SECタイプはPEEKカラムなので，エンドプラグ，フェラルなどは樹脂製のものをご使用ください．金属製の配管部品をご使用になられますとカラムを傷める可能性があります.

5-2 カラムの通液方向

通液方向は、ネームプレートに記載されているFlow矢印の方向に通液してください．カラム再生など特別な場合はその限りではありません.

5-3 気泡の混入防止

カラムを装置にセットする際，また取りはずす際にカラム内に空気を入れないように十分注意を払ってください．カラムを装置にセットする場合，必ず装置の全配管系の気泡を除いた後セットしてください．カラム内に気泡を入れますとチャンネリング等により性能が低下します.

5-4 カラム接続

5-4-1 エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てくる場合

カラムは装置の全配管系の気泡を除き，またカラム内部にも気泡がないことを確認してから接続します．カラムの入口側のエンドプラグを外したときにエンドフィッティングより溶媒がにじみ出てくれば，先に述べたように気泡をカラムに入れないように注意しながら装置にカラムを接続してください.

5-4-2 エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てこない場合

カラム入口側のエンドフィッティングより溶媒がにじみ出てこない場合には，カラム出口側エンドフィッティングと装置を接続し送液ポンプにより溶媒を送り，逆流しによって入口側エンドフィッティング付近の気泡を溶媒で押し出してください（この際，急激な加圧，あるいは送液は，カラムの性能が低下しますので，カラム適正流速の1/2以下の流速で通液してください）．

5-4-3 気泡が出ないことを確認したら

カラム入口側エンドフィッティングより気泡が出ないこと，および溶媒がにじみ出ることを確かめた後，カラムを正常な通液方向にして，入口側エンドフィッティングと装置を接続してください．

5-4-4 装置への接続と注意点

カラムと装置の接続は1/16インチPEEK又はテフロンパイプを用いますが，デッドボリュームを小さくするために配管の長さは短くして，さらに内径0.4㎜以下のものを使用してください．配管はエンドフィッティングにいっぱいに差し込んだ状態でフェラルを固定してください．配管とエンドフィッティングの間に隙間があると溶媒の流れが乱れ，分離能が低下します．

5-5 測定開始前

カラムのセット終了後測定を開始しますが，その際先に述べましたように急激な加圧，送液はカラム性能が低下しますので避けてください．特に急激な圧力の立ち上がりを示す送液ポンプは使用しないでください．

5-6 脈流対策

一般にカラムは脈流に対して影響を受けやすいので、十分に注意してください．送液ポンプは脈動のないものを選んでください．

5-7 HPLCシステム

分離能力を発揮するために，デッドボリュームの小さいシステムでのご使用をおすすめします．

5-8 測定終了後

5-8-1 測定温度が室温より高い場合

測定終了後すぐにポンプを止めないで，カラムの温度が室温に下がるまで送液を

続けてください．温度が高い状態でポンプを止めると，溶媒の収縮によりカラム内に気泡を発生することがあります．

5-8-2 短期保存の場合（3日～1週間以内）

測定終了後，カラムを装置から取りはずし，両端にエンドプラグをして保存してください．装置は，その後全配管系を蒸留水又はイオン交換水で洗浄してください．

5-8-3 長期保存の場合（1週間以上）

カラムを装置に取り付けたまま，全配管系を蒸留水又はイオン交換水を用いて，推奨使用流速の半分以下の流速で置換してください．その後，検査票のPACKED SOLVENTに記載されている溶媒を用いて推奨使用流速の半分以下の流速で置換した後にカラムを装置から取りはずし,両端にエンドプラグをして保存してください．

5-9 検出器

試料と移動層の物性の差により定量をおこなうため，UV吸収の差，屈折率の差に注意してください．RI検出器を使用する場合は試料と屈折率の差の大きい溶媒を，UV検出器を使用する場合は測定波長において吸収の弱い溶媒を選択してください．

5-10 溶媒について

5-10-1 溶媒の粘度

粘度の高い溶媒を用いると圧力損失が大きくなり，配管，ポンプ，カラムの劣化原因となりますのでご注意ください．使用溶媒の粘度が低ければ流速を高めにすることができます．逆に，溶媒の粘度が高ければ流速を低めに設定してください．

5-10-2 溶媒の沸点

室温（25℃）以上でご使用の時は，溶媒の沸点にご注意ください．

5-10-3 溶媒中の不純物

溶離液に使用した水や試薬中の不純物はゴーストピークの原因となるだけでなく，カラムを汚染し劣化を早めます．従って，水は超純水，HPLC用蒸留水，注射用蒸留水などを，有機溶媒はHPLCグレードまたは特級品を使用してください．また，溶離液はフィルタ（0.22㎜または0.45㎜）でろ過したものを使用してください．調整後３日以上経過した溶離液の使用は避けてください．

5-10-4 ラインフィルター

溶離液に含まれる微粒子や不純物がカラム内に進入することを防ぐため，インジェクションバルブと送液ポンプの間にハンディフィルタPEEK（品番18014）を取り付けてください．

5-10-5 脱気操作

溶媒の置換時（特に有機溶媒添加系への置換時）および測定時に溶媒から気泡が発生し，カラム内に進入することがあります．この気泡の発生を防ぐ為に，溶離液は脱気を十分におこなってください．

5-11 試料溶液の調整

5-11-1 試料調整

溶離液を用いて調整してください．

5-11-2 試料溶液中の不溶分、ゲル分

遠心分離やマイクロポアフィルタによるろ過精製を必ずおこなってください．肉眼では見ることができなくとも，不溶分が存在する可能性があります．

5-11-3 試料溶液の組成

試料液の塩濃度，pH，有機溶媒の添加量を溶離液にあわせてください．

また溶離液と混合することによって不溶性物質を生成するような試料は注入できませんのでご注意ください．

5-12 加温または冷却状態での測定

5-12-1 加温状態で測定される場合

溶媒はよく脱気してご使用ください．加温状態での測定が終了しましたら，カラム保護のため5-8-1の注意事項を必ず守ってください．

5-12-2 加温状態での測定の利点

主として次のような利点があります．

(1) 溶媒および試料の粘度が高い場合の粘度低下

(2) 室温使用の場合より理論段数が向上し分離能が高まる

5-12-3 室温以下の低温で測定する場合

加温状態での利点と反対の欠点が生じます．また，溶媒および試料の粘度が高ま

るため，室温の場合よりも流速を低くすることが必要です．

6. カラムの保存方法

6-1 保存方法

カラムは直射日光及び腐食性ガスを避けて，室温にて温度差の小さい場所に保存してください．カラムを0度以下の場所に放置した場合には凍結の可能性があり，カラム劣化の原因となりますので絶対に避けてください．

7. 溶媒の選択

7-1 溶媒選択の注意事項

BioAssist PW SECタイプは通常の塩水溶液および緩衝液に安定です．SECにおいては，試料と充てん剤とが相互作用することなく，試料の溶液中での分子の大きさのみによって，分離されるのが理想です．試料中のイオン性不純物の存在，試料と充てん剤との相互作用の抑制などを考慮し，塩水溶液または緩衝液で測定するのが一般的です．

非イオン性試料の多くは薄い塩水溶液で測定可能です．イオン性試料の測定においては緩衝液を使用するのが一般的です．通常中性付近のpHで測定しますが，充てん剤との相互作用が認められる場合には適切なpHを選択することが必要です．

なお，塩添加による粘度上昇および，温度変化などによる塩の析出を避けるために，溶媒の塩の濃度は0.5mol/L以下が一般的です．ただし試料によって用いることのできない塩水溶液がありますので注意してください．

7-2 有機溶媒の添加

BioAssist PW SECタイプは通常の水溶性有機溶媒に対して安定です．濃度については充てん剤の膨潤収縮性を考慮して通常20%以下とするのが無難ですが，溶媒交換を注意深く行うことにより50%までの高濃度下における使用も可能です．

溶媒液への水溶性有機溶媒の添加においては，緩衝液中の塩が析出しないことを確認してください．溶媒中の有機溶媒の濃度を急激に変化させることはカラム性能の劣化の原因になりますので溶媒交換時には十分流速を下げて（好ましくは，グラジエント法により）徐々に変化させてください．

7-3 使用可能なpH範囲

TSKgel BioAssist G6PW　　2.0～12.0

7-4 使用溶媒の置換

TSKgel BioAssist G6PWカラムの出荷時の溶媒は蒸留水です．使用溶媒への置換は，流速0.3mL/minでおこなってください．

また頻繁な溶媒交換はカラム性能低下を早めますので，不必要な溶媒交換は避けてください．

8. 使用流速

表１に示す適正流速で使用してください．最大流速以上，最大圧力以上でのご使用は絶対に避けてください．

表１　使用流速

品名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	適正流速 (ml/min)	最大流速 (ml/min)	最大圧力 (MPa)
TSKgel BioAssist G6PW	7.8×30	0.5～1.0	1.2	1.0

9. 使用温度

表２に示す温度範囲でご使用ください．

表2　使用温度

品名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	使用温度 (℃)
TSKgel BioAssist G6PW	7.8×30	10～80

10. 理論段数，非対称係数の測定

カラムの理論段数，非対称係数および測定条件は，検査票（INSPECTION DATA）記載の通りです.

10-1 理論段数計算法

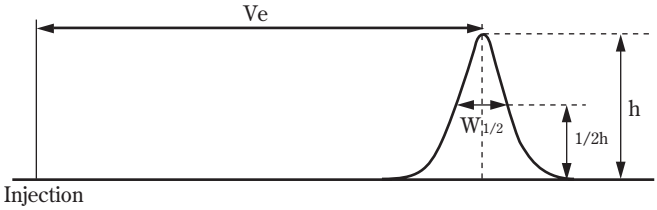

図3 TSK-GEL　理論段数計算法

カラムの理論段数は，半値幅法により計算をおこなっており，カラム当りの段数で表示してあります.

$N = 5.54 (Ve/W1/2)^2$

Ve	：	溶出時間（min）
W1/2	：	ピーク半値幅（min）
h	：	ピーク高さ
N	：	カラム当りの理論段数

10-2 非対称係数計算法

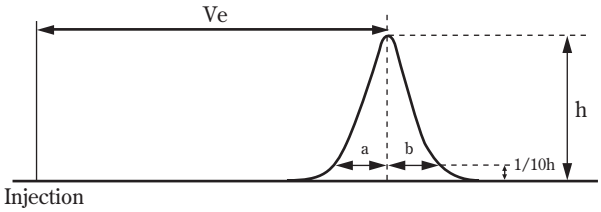

図4 TSK-GEL　非対称係数計算法

カラムの非対称係数は、1/10h法により計算をおこなっています.

$As = b/a$

As　：　非対称係数

なお，カラム検定は，（デッドボリュームを小さくした）当社HLC装置で測定しています．

デッドボリュームの大きい装置を使用した場合，あるいは注入量を多くした場合は，規格値よりも低い理論段数を示すことがありますので，注意してください．

11. ガードカラム

BioAssistシリーズには専用のガードカラムはありません．試料中の吸着性物質から本カラムを保護する目的には，ハンディフィルタPEEK（品番18014）の使用が効果的です．

12. トラブル発生時の処置法

12-1 カラムエンドフィッティングトラブル

試料の注入後急激に流量が低下した場合，同一流量でカラム購入時より大きく圧損が増大した場合，12-1-1〜12-1-3 項の処置，確認をおこなってください．

12-1-1 つまり物の押し出し

カラムを装置より取りはずし，出口側エンドフィッティングをポンプ側配管に接続し通常の流速で送液して，入口側エンドフィッティングにつまったものをカラム外に押し出してください．この操作でつまったものが取れない場合，あるいはエンドフィッティングが破損した場合は，13-1-2 項の手順にしたがってエンドフィッティングの交換をおこなってください．

12-1-2 エンドフィッティングの交換

新しいエンドフィッティングを用意し，つまったエンドフィッティングをカラムより取りはずします．この際，ゲルが外部に漏れないよう細心の注意を払ってください．取りはずしたエンドフィッティングに残っているゲルを，新しいエンドフィッティングに移しカラムに取りつけます．

12-1-3 エンドフィッティングの交換後

交換が終わりましたら，5-4-2 項を参考にして，新しいエンドフィッティング側の気泡を取り除いた後，理論段数を測定し，段数の低下が起こっていないか確認してください．

12-2 分離能が急激に低下した場合

カラム系の理論段数を測定してください．段数が正常であれば試料に原因があると思われますので，新しい試料を作り直してください．もし理論段数も異常であれば，カラムの性能低下と考えられます．

カラム系の分離能が急激に低下する原因としては，12-2-1～12-2-3項が考えられますので，当該項目に記された処置をおこなってください．

12-2-1 エンドフィッティングにゴミ等がつまり，流路に乱れを生じる場合

12-1 項を参考にして，エンドフィッティングの洗浄または交換後，理論段数を測定してください．

12-2-2 カラム入口側のすき間

急激な加圧，最高流速以上の流速がかかった場合，5-6 項の脈流対策に関して考慮しなかった場合，あるいは交換可能以外の溶媒を流した場合は，カラムの入口側にすき間が生じる場合があります．

理論段数が極端に低下し（購入時段数の30%以下），かつピークが 2 つに割れたりした場合，カラム入口側にすき間が空いたと考えられます．入口側エンドフィッティングを取りはずして，すき間が空いていましたら，巻末の連絡先にご相談ください．

12-3 使用中に試料が吸着して溶出しないか，または溶出がいちじるしく遅れる場合

下記に洗浄法の代表例を示します．

カラムを初期溶離液に置換した後，サンプルループをカラム内容積の約1/10程度のループに交換して下記の溶液を数回ずつ順番に注入してください．

1. 0.1mol/L NaOH水溶液
2. 20～40%酢酸水溶液
3. 水溶性有機溶媒を添加した溶離液
4. 尿素，中性界面活性剤を添加した溶離液

これらの方法を1より順におこない，各段階でカラムをチェックしてください．通常の吸着物質は1．2で洗浄できます．

13. 品質規格および保証

13-1 検査票（INSPECTION DATA）

検定条件，検定結果は検査票記載の通りです．このうち，理論段数はカラム当たりの理論段数，圧力は検定流速での圧力を表示してあります．

13-2 品質規格

以下の規格で出荷されています．

表 3　品質規格

品番	品名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	理論段数 (TP/Column)	非対称係数 (As)
20024	TSKgel BioAssist G6PW	7.8×30	3000以上	0.7～1.6

13-3 保証

q 現品到着後，検査票並びにこの取扱説明書に記載の条件で，カラムの理論段数および非対称係数をチェックしてください．当社の責任で規格値を外れている場合には良品と交換いたします．

w 輸送中の事故などで，カラムに破損が認められる場合には良品と交換いたします．

e 上記，品質不良につきましては現品到着後，2 週間以内にご連絡ください．2 週間を過ぎた場合は良品としてお受取りいただいたものとみなします．

r カラムの寿命については，保証の対象外といたします．

t 商品の仕様は，改良のため予告なく変更することがあります．

14. おわりに

本取扱説明書の内容に関して、不明な点あるいはご質問等がありましたら巻末の連絡先にご連絡ください．

以下の名称は東ソー株式会社の登録商標です.
HLC, TSK-GEL, TSKgel, TSKgel SuperMultipore,
BioAssist, Enantio, PStQuick,
エンバイロパック/Enviropak, トヨパール/TOYOPEARL, ToyoScreen,
TOYOPEARL GigaCap, トヨパールメガキャップ/TOYOPEARL MegaCap,
トヨパールパック/TOYOPEARLPAK, TOYOPAK

東ソー株式会社　バイオサイエンス事業部

東京本社　営業部　☎(03)5427-5180　〒105-8623　東京都港区芝3-8-2
大阪支店　バイオサイエンスG　☎(06)6209-1948　〒541-0043　大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店　バイオサイエンスG　☎(052)211-5730　〒460-0003　名古屋市中区錦1-17-13
カスタマーサポートセンター　☎(0120)17-1200　〒252-1123　神奈川県綾瀬市早川2743-1

Printed in Japan